

**This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

**Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.**

**Defects in the images may include (but are not limited to):**

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORLED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>A61K 9/16, 9/72</b></p>	<b>A1</b>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 99/52506</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 21. Oktober 1999 (21.10.99)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border-right: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02385</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 8. April 1999 (08.04.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 16 085.2      9. April 1998 (09.04.98)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AVENTIS RESEARCH &amp; TECHNOLOGIES GMBH &amp; CO. KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BENGs, Holger [DE/DE]; Bindingstrasse 3, D-60598 Frankfurt am Main (DE). GRANDE, Jürgen [DE/DE]; Am Hübenbusch 36, D-65812 Bad Soden (DE).</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, RU, US, ZA, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Mit geänderten Ansprüchen.</i></p> <p>Veröffentlichungsdatum der geänderten Ansprüche: 25. November 1999 (25.11.99)</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02385</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 8. April 1999 (08.04.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 16 085.2      9. April 1998 (09.04.98)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AVENTIS RESEARCH &amp; TECHNOLOGIES GMBH &amp; CO. KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BENGs, Holger [DE/DE]; Bindingstrasse 3, D-60598 Frankfurt am Main (DE). GRANDE, Jürgen [DE/DE]; Am Hübenbusch 36, D-65812 Bad Soden (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, RU, US, ZA, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Mit geänderten Ansprüchen.</i></p> <p>Veröffentlichungsdatum der geänderten Ansprüche: 25. November 1999 (25.11.99)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02385</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 8. April 1999 (08.04.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 198 16 085.2      9. April 1998 (09.04.98)      DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AVENTIS RESEARCH &amp; TECHNOLOGIES GMBH &amp; CO. KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BENGs, Holger [DE/DE]; Bindingstrasse 3, D-60598 Frankfurt am Main (DE). GRANDE, Jürgen [DE/DE]; Am Hübenbusch 36, D-65812 Bad Soden (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, NO, NZ, PL, RU, US, ZA, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Mit geänderten Ansprüchen.</i></p> <p>Veröffentlichungsdatum der geänderten Ansprüche: 25. November 1999 (25.11.99)</p>			
<p>(54) Title: PARTICULATE ACTIVE AGENT SUPPORT FOR PULMONARY APPLICATION</p> <p>(54) Bezeichnung: PARTIKULÄRER WIRKSTOFFTRÄGER FÜR DIE PULMONALE APPLIKATION</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to the preparation of a particulate active agent support and to pharmaceutical compositions thereof with a depot effect. The biocompatible, particulate active agent support, which can be prepared in a dry form, is partly or wholly produced from linear water-insoluble polysaccharides, preferably poly(1,4-<math>\alpha</math>-D-glucan), in a homogenous standard size, preferably by means of a biotransformatic process, and has the ability to form clusters and/or agglomerates. The advantages of the invention are particularly useful in dry powder inhalation applications.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft die Bereitstellung eines partikulären Wirkstoffträgers und dessen pharmazeutische Zusammensetzungen mit Depotwirkung zur pulmonalen Applikation. Der trockenformulierbare biokompatible, partikuläre Wirkstoffträger ist hergestellt ganz oder teilweise aus linearen wasserunlöslichen Polysacchariden, vorzugsweise Poly(1,4-<math>\alpha</math>-D-glukan), in homogener einheitlicher Größe aus vorzugsweise biotransformatischer Herstellung mit der Fähigkeit zur Cluster- und/oder Agglomeratbildung. Die sich daraus ergebenden Vorteile werden bevorzugt im Rahmen der trockenen Pulverinhalation genutzt.</p>				

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

**GEÄNDERTE ANSPRÜCHE**

[beim Internationalen Büro am 8. Oktober 1999 (08.10.99) eingegangen;  
ursprüngliche Ansprüche 1-18 durch geänderte Ansprüche 1-15 ersetzt (2 Seiten)]

1. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation, dadurch gekennzeichnet, daß diese mindestens ein lineares wasserunlösliches Polysaccharid enthalten und die mittlere Größe kleiner als 10 µm ist.
2. Partikuläre Wirkstoffträger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß diese Agglomerate und / oder Cluster bilden, die kleiner als 60 µm sind.
3. Partikuläre Wirkstoffträger nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß diese in einer Mischung vorliegen und eine effektive Wirkstoffverteilung und deren Penetration in der Lunge ermöglicht.
4. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen linearen Polysaccharid, welches in einem biotechnischen Verfahren hergestellt wurde.
5. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen linearen Polysaccharid, welches durch einen biokatalytischen Prozeß hergestellt wurde.
6. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen linearen Polysaccharid, welches durch einen fermentativen Prozeß hergestellt wurde.
7. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das lineare wasserunlösliche Polysaccharid Poly(1,4-α-D-glukan) ist.

8. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß diese biokompatibel und / oder pharmazeutisch akzeptabel sind.
- 5 9. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur kontrollierten Wirkstoffabgabe in den Alveolen.
- 10 10. Partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich einen oder mehrere Wirkstoffe enthalten.
- 15 11. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Inhalation mit Hilfe eines "Dry Powder Inhalers".
- 20 12. Dispergierbare Trockenformulierung und / oder Puder enthaltend partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen Applikation nach einem der Ansprüche 1 bis 10.
- 25 13. Dispergierbare Trockenformulierung und / oder Puder nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß diese einen Wassergehalt von weniger als 25 % aufweist, bevorzugt einen Wassergehalt von weniger als 15 % und besonders bevorzugt ein Wassergehalt von 5 - 10 %.
- 30 14. Dispergierbare Trockenformulierung und/oder Puder nach Anspruch 12 und 13 mit einem Böschungswinkel  $\leq 30$  Grad.
15. Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend lineare wasserunlösliche Polyssaccharide nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und 10 neben üblichen Trägerstoffen, Hilfsmitteln und / oder Zusatzstoffen.

In WO 96/32116 werden Mikropartikel in der Größenordnung von 0,5 bis 50  $\mu\text{m}$  beschrieben, die aus Nukleinsäuren oder viralen Vektoren bestehen und aus einer Suspension mittels hydrophilen oligomeren Polysacchariden unter Trocknung, insbesondere Sprühtrocknung, erhalten werden können.

- 5 WO 96/32152 beschreibt Partikel, bestehend aus dem Wirkstoff  $\alpha$ -1-Antitrypsin in der Größe von 1-50  $\mu\text{m}$ , wobei auch Verdünnungsmittel zugelassen sind. Die Druckschrift WO 97/36574 beschreibt hohle Partikel mit glatter Oberfläche, die Größe beträgt 0,5-7,0  $\mu\text{m}$ .
- 10 In den Druckschriften WO 97/36574, WO 96/36314, WO 96/00127 und WO 96/32096 werden weitere partikuläre Systeme beschrieben, die aus teilweise synthetischen Polymeren bestehen oder aus dem Wirkstoff als solcher unterschiedlichster Größe.
- 15 Im Stand der Technik ist problematisch, daß die Depotwirkung der Partikel relativ begrenzt ist. Des weiteren handelt es sich um wasserlösliche, zumeist aus einer chemischen Synthese hervorgehende Produkte, die deren Biokompatibilität einschränkt (Lösungsmittelreste, Fremdmaterial etc.). Ebenso werden in Größe, Oberfläche und Zusammensetzung unheitliche inhomogene Partikel erhalten, die
- 20 insbesondere in der pulmonalen Applikation die Bioverfügbarkeit einschränkt, z. B. Verlust durch Ablagerungen außerhalb des Erfolgsortes sowie Beeinträchtigung der Dispergierbarkeit. Des weiteren ergeben sich Probleme im Stand der Technik hinsichtlich der Beladbarkeit des Trägers.
- 25 Daher ist es Aufgabe der Erfindung einen trockenformulierbaren Wirkstoffträger besonderer Güte für die auf dem Markt befindlichen Applikatoren zu entwickeln, der diese Nachteile umgeht. Insbesondere sollte dabei die Möglichkeit gegeben sein, eine Partikeltechnik zu etablieren, die in der Lage ist, einen Depoteffekt in der Lunge zu erzielen. Deshalb ist es ebenfalls die Aufgabe der Erfindung
- 30 dispergierbare partikuläre Wirkstoffträger herzustellen. Ebenfalls eine Aufgabe ist die Bereitstellung eines möglichst einfachen und vorteilhaften Verfahrens zur Herstellung von Trockenformulierungen, die vorzugsweise im Rahmen der

pulmonalen Applikation verwendet werden können. Insofern stellt ebenfalls die Optimierung des Wirkstoffträgers in Größe, Oberfläche und Morphologie hinsichtlich der Anwendung zur Inhalation eine Aufgabe dar.

- Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß partikuläre Wirkstoffträger zur pulmonalen
- 5 Applikation bereitgestellt werden, die mindestens ein lineares wasserunlösliches Polysaccharid enthalten und deren mittlere Größe kleiner als 10 µm ist.

Durch die erfindungsgemäßen Maßnahmen werden zusätzliche Vorteile erzielt:

- Leichtere Beladbarkeit des Trägermaterials mit Wirkstoff durch die gute  
10 Suspendierbarkeit in verschiedenen Medien (z. B. Dispersionsverfahren, Sprühtrocknung);
- Unbedenklichkeit und hohe Biokompatibilität des verwendeten Trägermaterials durch natürlich vorkommende Strukturen und durch die Verwendung naturidentischer Produkte;
- 15 • Die Vermeidung eines Zusatz von oberflächenaktiven Verbindungen bei der Herstellung der Wirkstoffformulierung;
- Der für das Flugverhalten sich positiv auswirkende aerodynamische Durchmesser. Dieser wird aufgrund der porösen Oberflächenbeschaffenheit im Vergleich zu einer glatten Kugel erreicht und durch die gleichzeitig mit der  
20 Oberflächenrauigkeit einhergehende Tendenz zur Cluster- und / oder Agglomeratbildung unterstützt.

- Im Sinne der Erfindung bezeichnet partikulärer Wirkstoffträger Partikel einer mittleren Größe kleiner als 10 µm, insbesondere von 1 bis 10 µm, vorzugsweise 2  
25 bis 6 µm und besonders bevorzugt 1 bis 3 µm, die als essentiellen Bestandteil mindestens ein lineares wasserunlösliches Polysaccharid enthalten.

- Lineare wasserunlösliche Polysaccharide im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Polysaccharide, vorzugsweise Polyglukane, insbesondere Poly(1,4-alpha-D-glukan), die aus Monosacchariden, Disacchariden, weiteren Oligomeren davon oder  
30 Derivaten bestehen.

Diese sind stets in der gleichen Art miteinander verknüpft. Jede so definierte Grundeinheit hat genau zwei Verknüpfungen, jeweils eine zu einem anderen

Monomer. Davon sind ausgenommen die beiden Grundeinheiten, die den Anfang und das Ende des Polysaccharids bilden. Diese Grundeinheiten haben nur eine Verknüpfung zu einem weiteren Monomer. Bei drei oder mehr Verknüpfungen (kovalente Bindungen) eines Monomers zu einer anderen Gruppe, bevorzugt einer weiteren Saccharideinheit, spricht man von einer Verzweigung. Von jedem Saccharidbaustein im Polymerrückgrat gehen dann mindestens drei glykosidische Bindungen ab.

Erfindungsgemäß treten Verzweigungen nicht oder nur in so untergeordnetem Maß auf, daß sie bei den vorliegenden sehr kleinen Verzweigungsanteilen im allgemeinen den herkömmlichen analytischen Methoden nicht mehr zugänglich sind. Dies ist zum Beispiel dann der Fall, wenn bezogen auf die Gesamtheit aller vorhandenen Hydroxygruppen auf einhundert Hydroxygruppen, die nicht zum Aufbau des linearen Polysaccharids benötigt werden, maximal fünf Hydroxygruppen durch Verknüpfungen zu anderen Saccharidbausteinen belegt sind.

Dabei ist der Verzweigungsgrad maximal (100 %), wenn an jeder Saccharideinheit die freien Hydroxygruppen (oder andere auftretende funktionelle Gruppen) weitere glykosidische (oder andere) Bindungen zu weiteren Sacchariden aufweisen. Der Verzweigungsgrad ist minimal (0 %), wenn an den Sacchariden außer den Hydroxygruppen, die die Linearität des Polymers bedingen, keine weiteren Hydroxygruppen durch chemische Reaktion verändert sind.

Beispiele für bevorzugte wasserunlösliche lineare Polysaccharide sind lineare Poly-D-glucane, wobei die Art der Verknüpfung unwesentlich ist, solange Linearität im Sinne der Erfindung vorliegt. Beispiele sind Poly(1,4-alpha-D-Glucan) und Poly(1,3-beta-D-Glucan), wobei Poly(1,4-alpha-D-Glucan) besonders bevorzugt ist.

Besitzt die Grundeinheit drei oder mehr Verknüpfungen, wird von Verzweigung gesprochen. Dabei ergibt sich aus der Anzahl der Hydroxylgruppen pro 100 Grundeinheit, die nicht am Aufbau des linearen Polymerrückgrats beteiligt sind und die Verzweigungen ausbilden, der sogenannte Verzweigungsgrad.

Erfindungsgemäß weisen die linearen wasserunlöslichen Polysaccharide einen Verzweigungsgrad von weniger als 8 % auf, d.h. sie haben weniger als 8



Verzweigungen auf 100 Grundeinheiten. Vorzugsweise ist der Verzweigungsgrad kleiner 4 % und insbesondere maximal 1,5 %.

Ist das wasserunlösliche lineare Polysaccharid ein Polyglucan, z.B. Poly-(1,4-alpha-D-Glucan), ist der Verzweigungsgrad in 6-Position kleiner 4 %, vorzugsweise maximal 2 % und insbesondere maximal 0,5 % und der Verzweigungsgrad in den anderen nicht an der linearen Verknüpfung beteiligten Positionen, z.B. der 2- bzw. 3-Position im Fall des bevorzugten Poly-(1,4-alpha-D-Glucans), ist vorzugsweise jeweils maximal 2 % und insbesondere maximal 1 %.

10

Besonders bevorzugt sind Polysaccharide, insbesondere Poly-alpha-D-Glucane, die keine Verzweigungen aufweisen, bzw. deren Verzweigungsgrad so minimal ist, daß er mit herkömmlichen Methoden nicht mehr nachweisbar ist.

15 Erfindungsgemäß beziehen die Präfixe "alpha", "beta" oder "D" allein auf die Verknüpfungen, die das Polymerrückgrat ausbilden und nicht auf die Verzweigungen.

"Wasserunlöslichkeit" im Sinne der vorliegenden Erfindung bedeutet, daß keine  
20 erkennbare Löslichkeit der Verbindung unter Normalbedingungen (Raumtemperatur von 25 °C und ein Luftdruck von 101325 Pascal oder davon maximal 20 % abweichende Werte zugrundeliegt) besteht.

Im Fall der erfindungsgemäß verwendeten Polysaccharide, insbesondere der  
25 Polyglucane wie Poly(1,4-alpha-D-glukan), bedeutet dies, daß mindestens 98 % der eingesetzten Menge, bevorzugt eine Menge größer 99,5 %, in Wasser unlöslich ist. Dabei kann der Begriff Unlöslichkeit auch anhand folgender Beobachtung erläutert werden. Erhitzt man 1 g des zu untersuchenden linearen Polysaccharids in 1 l entionisiertem Wasser auf 130 °C unter einem Druck von 1 bar, so bleibt die  
30 entstehende Lösung nur kurzzeitig, über wenige Minuten stabil. Beim Erkalten unter Normalbedingungen fällt die Substanz wieder aus. Nach weiterem Erkalten und Abtrennung mit der Zentrifuge unter Einkalkulation von experimentellen Verlusten,

lassen sich auf diese Weise mindestens 66 % der eingesetzten Menge zurückgewinnen.

Im Rahmen dieser Erfindung werden bevorzugt lineare, wasserunlösliche Polysaccharide verwendet, welche mit Hilfe von biotechnischen oder

- 5 gentechnischen Methoden allgemeiner Definition gewonnen werden können. Eine besonders vorteilhafte Ausführungsform für die hier beschriebene Erfindung ist die Herstellung in einem biotechnischen Verfahren, insbesondere in einem biokatalytischen Verfahren, oder in einem fermentativen Verfahren.

Lineare Polysaccharide hergestellt durch Biokatalyse (ebenso: Biotransformation)

- 10 im Rahmen dieser Erfindung bedeutet, daß das lineare Polysaccharid durch katalytische Reaktion von monomeren Grundbausteinen wie oligomeren Sacchariden, z. B. von Mono- und / oder Disacchariden hergestellt wird, indem ein sogenannter Biokatalysator, üblicherweise ein Enzym, unter geeigneten Bedingungen verwendet wird. Bevorzugt wird insbesondere Poly(1,4-alpha-D-
- 15 glukan) mittels Polysaccharidsynthasen und / oder Stärkesynthasen und / oder Glykosyltransferasen und / oder alpha-1,4-Glukantransferasen und / oder Glycogensynthasen und / oder Amylosucrasen und / oder Phosphorylasen hergestellt.

Lineare Polysaccharide aus Fermentation sind im Gebrauch der Erfindung lineare

- 20 Polysaccharide, die durch fermentative Prozesse unter der Verwendung in der Natur vorkommender Organismen, wie Pilze, Algen oder Mikroorganismen oder unter der Verwendung von in der Natur nicht vorkommender Organismen, die durch Modifizierung von natürlichen Organismen, wie Pilze, Algen oder Mikroorganismen, mittels gentechnischer Methoden allgemeiner Definition gewonnen werden können.

- 25 Darüber hinaus können lineare Polysaccharide zur Herstellung der in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Retardtablette aus nicht-linearen Polysacchariden, die Verzweigungen enthalten, gewonnen werden, indem sie mit einem Enzym behandelt werden und unter Spaltung (z. B. mittels Enzyme, wie Amylase, iso-Amylase, Gluconohydrolase, Pullulanase u. a.) und Abtrennung der
- 30 Verzweigungen lineare Polymere daraus erhalten werden können.

Die Gewinnung und Aufreinigung linearer wasserunlöslicher Polysaccharide mittels bio- und gentechnischen Methoden aus Pflanzen kann nicht ausgeschlossen werden und wird ausdrücklich mit einbezogen.

Die partikuläre Wirkstoffträger können insbesondere durch die Mikropartikeltechnik hergestellt werden, die Gegenstand der Patentanmeldung (DPA, AZ: 197 37 481.6) ist.

Denkbar sind neben der Trockenformulierung Inhalationen auf der Basis von Dispersionen und Suspensionen des Wirkstoffträgers, die hier ausdrücklich mit einbezogen werden. Als besonders geeignet und bevorzugte Ausführungsform ist jedoch die Inhalation auf der Basis der Trockenformulierung zu sehen. Hierbei handelt es sich um ein dispergierbares trockenes Puiver, welches mittels Pulverinhalatoren ("Dry Powder Inhaler") pulmonal appliziert werden kann. Erfindungswesentlich ist, daß in der Trockenformulierung Mikropartikel bereitgestellt werden, wie in der Patentanmeldung (DPA, AZ: 197 37 481.6) beschrieben. Hierbei handelt es sich um Monopartikel (Fig. 1 und 2), die einen besonders geeigneten aerodynamischen Durchmesser aufweisen, der sich vorteilhaft auf eine Inhalation auswirkt (z. B. verminderte Abscheidung an Wänden). Besonders vorteilhafte aerodynamischen Durchmesser für die Zwecke der Erfindung zeigen die aus den Monopartikel gebildeten Cluster und / oder Aggregate und / oder Agglomerate. Ebenso wird aufgrund der Mischung dieser Partikel unter Berücksichtigung der anatomischen Gegebenheiten der Lunge eine verbesserte Wirkstoffverteilung und Lungenpenetration (auch: Atemtiefe) erzielt (siehe Beispiele zu Andersen-Impactor). Zur Definition des genannten aerodynamischen Durchmesser bedient sich die Erfindung, der Definition anhand der Schrift WO 97/36574, wobei durch die Multiplikation des geometrischen Durchmessers, der die räumliche Ausdehnung eines kugelförmigen Gebildes (z. B. ein sphärischer Partikel) bestimmt durch den Abstand von Oberfläche zu Oberfläche durch den Mittelpunkt des kugelförmigen Gebildes ermittelt wird, mit der Wurzel der Partikeldichte. Unter einem Cluster und / oder einem Aggregat und / oder Agglomerat ist eine Anhäufung von Monopartikeln zu verstehen, die durch den Aufbau nichtkovalenter Kräfte entstehen. Besonders vorteilhaft wirkt sich hier beispielsweise eine kappenartige und / oder himbeerartige und / oder sphärische Struktur aus, wie in

Bild 3 und Bild 4 dargestellt. Nichtkovalente Kräfte können beispielsweise dipolare Wechselwirkungen, van-der-Waals-Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen oder auch sterische Wechselwirkungen sein, wobei letztere in allgemeiner Definition auch als Schlüssel-Schloss-Prinzip bezeichnet werden können.

- 5 Die Molekulargewichte  $M_w$  der erfindungsgemäß verwendeten linearen Polysaccharide können in einem weiten Bereich von  $10^3$  g/mol bis  $10^7$  g/mol variieren, vorzugsweise Molekulargewichte  $M_w$  im Bereich von  $10^4$  g/mol bis  $10^5$  g/mol, insbesondere  $5 \times 10^3$  g/mol bis  $5 \times 10^4$  g/mol verwendet. Für das vorzugsweise verwendete lineare Polysaccharid Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) werden
- 10 entsprechende Bereiche der Molekulargewichte verwendet.

"Biokompatibel" im Sinne dieser Erfindung bedeutet, daß die eingesetzten Polysaccharide einem vollständigen biologischen Abbau unterzogen werden können und weitgehendst keine Anreicherung im Organismus erfolgt.

Unter biologischen Abbau ist dabei jedweder in vivo ablaufende Vorgang

- 15 angesprochen, der zu einem Abbau oder Zerstörung des Polymers führt. Insbesondere fallen ebenfalls hydrolytische oder enzymatische Prozesse in diesen Bereich. Für die Biokompatibilität der Polysaccharide sowie seiner Abbauprodukte (Metabolite) ist nicht zuletzt auch der naturidentische Charakter der eingesetzten Polysaccharide von hoher Bedeutung. Daher sind die in Frage kommenden
- 20 Polysaccharide für den therapeutischen, diagnostischen oder prophylaktischen Einsatz besonders geeignet.

Des weiteren ergänzt der Begriff "pharmazeutisch akzeptabel" im Sinne dieser Erfindung, daß ein Träger für einen Wirkstoff, ein Hilfsmittel oder auch sogenanntes Excipient, durch ein lebendes Wesen aufgenommen werden kann, ohne daß

- 25 signifikante Nebenwirkungen für den Organismus entstehen. Im besonderen Fall der pulmonalen Verabreichung bedeutet dies, daß das Hilfsmittel durch die Lunge aufgenommen werden kann und dort durch die körpereigenen Mechanismen abgebaut, aufgelöst, weitertransportiert wird oder aber es zu Ablagerungen kommt, die auch durch Kumulation nicht zu nachteiligen Effekten für das Lebewesen führen.
- 30 Unter einer "kontrollierten Wirkstoffabgabe" wird verstanden, daß der Wirkstoffe unter Akzeptanz einer den Umständen entsprechenden statistischen Abweichung

nach einer bestimmten Zeit und / oder Zeitdauer in einer für den biologischen Organismus vorteilhaften Dosis freigesetzt wird.

- 5 Diese Definition beinhaltet auch Extreme. Zum einen die spontane Freigabe aller in der Formulierung vorliegenden Wirkstoffen innerhalb einer auf den Wert Null zusehenden Zeitdauer. Zum anderen die minimal erforderliche Menge/Dosis zur Erzielung eines therapeutischen Effekts über einen langen, gar unendlichen Zeitdauer, mindestens einer Zeitdauer, die notwendig ist, sämtliche in der Formulierung vorliegende Wirkstoffe freizusetzen.
- 10 Daher wird für die hier vorliegende Trockenformulierung synonym von einer Depotformulierung oder Formulierung mit verzögerter Freisetzung gesprochen. "Trockenformulierung" und / oder "Puder" im Sinne dieser Erfindung bedeutet eine Komposition, die aus feinen festen Partikeln der jeweiligen pharmazeutischen Zusammensetzung besteht. Diese Partikel sind in ihrer Gesamtheit frei fließend und
- 15 dispergierbar.
- Im besonderen Fall der Inhalationsanwendung bedeutet Trockenformulierung und/oder Puder zusätzlich, daß sie in einem Gerät für die Inhalation für ein trockenes Pulver angewendet werden, so daß ein therapeutischer Effekt erkennbar ist. Man benutzt in diesem Zusammenhang auch den Terminus "anwendbar für den
- 20 pulmonalen Transport von Wirkstoffen" oder "einatembar", "atembar" oder "respirabel" (engl. "respirable").

- In diesem Zusammenhang wird im Rahmen dieser Erfindung unter "trocken" ein Wassergehalt von weniger als 25 % verstanden, wobei ein Wassergehalt von
- 25 weniger als 15 % bevorzugt ist. Insbesondere bevorzugt ist ein Wassergehalt von 5 % bis 10 %.

- "Therapeutischer Effekt" im Sinne dieser Erfindung bedeutet, daß eine therapeutisch effektive Menge eines Wirkstoffs an den angestrebten Zielort gelangt, dort seine Wirkung entfaltet, und eine physiologische Reaktion bewirkt. Der
- 30 palliative und / oder kurative Effekt wird einbezogen.

"Dispergierbarkeit" im Sinne dieser Erfindung bedeutet, daß die erhaltene Trockenformulierung durch äußere mechanische Kräfte so zerstäubt oder aufgewirbelt werden kann, daß dieser Zustand für einen bestimmten kurzen Zeitraum so stabil ist (fest in gasförmig oder fest in flüssig), daß ein weitergehender Prozeß eingeleitet werden kann, der einen höheren Nutzen stiftet. Im Rahmen dieser Erfindung dient die pulmonale Anwendung, also die Wirkstoffaufnahme über die Lunge, als herausragendes Beispiel, aber auch andere Wirkstofftransportphänomene sind nicht ausgeschlossen.

Zur pulmonalen Applikation können die allgemein zugänglichen auf dem Markt befindlichen Inhalatoren, insbesondere sogenannte "Dry Powder Inhalatoren" eingesetzt werden sowie bereits in Patenten und Offenlegungen beschriebene Apparaturen verwendet werden (Hersteller: 3M Manufacturing Minnesota Mining, Inc., Inhale Therapeutic Systems, Inc., Dura Pharmaceuticals, Aerogen und Aradigm Corporation, aus: WO 94/16756, WO 96/30068, WO 96/13292, WO 96/33759, WO 96/13290, WO 96/32978, WO 94/08552, WO 96/09085, WO 95/28192).

Die Wirkstoffe, die als pharmazeutische Zusammensetzung mittels des beschriebenen Wirkstoffträgers pulmonal appliziert werden können, unterliegen keinerlei Einschränkungen.

Insbesondere ist die pharmazeutische Zusammensetzung wirksam für Krankheitsbilder, die entweder genetisch bedingt sind oder aber im Lauf des Lebens erworben wurden.

Die Freigabe des Wirkstoffs kann entweder systemisch oder lokal erfolgen. Es kann ein palliativer oder kurativer Effekt angestrebt werden.

Die mit der vorliegenden Erfindung eingesetzten Wirkstoffe können sowohl wasserlöslich als auch wasserunlöslich sein. Die im pharmazeutischen Bereich eingesetzten aktiven Substanzen oder Wirkstoffe können entweder therapeutisch oder diagnostisch, aber auch prophylaktisch aktiv sein.

Die eingesetzten Wirkstoffe können sich auf die verschiedensten Indikationen beziehen. Zu nennen sind etwa:

Asthma, zystische Fibrose, allgemeine Lungenkrankheiten, Diabetes (Hypoglykämische Reaktion), Krebs, Mukoviszidose, renale Anämie, Hämophilie, Ovulationsstimulation, Neutropenien, Morbus Gaucher, Hypernephrom, Haarzell-

Leukämie, Karzinome, Multiple Sklerose, chronische Granulomatose, Myokardinfarkt, Thrombosen, Hypophysärer Kleinwuchs, Behandlung Heparinassoziierter Thrombozytopenie (HAT) Typ II, Vakzinierungen, Hepatitis B-Prävention, Wachstumsstimulation von zellulären Elementen, Bronchitis, chronische Atemwegserkrankungen, Lungenkrankheiten und Brust Infektionen.

Die partikulären Wirkstoffträger unterliegen keinerlei Einschränkungen hinsichtlich der Stabilität der Wirkstoffe. Bei den verwendeten naturidentischen Polysacchariden handelt es sich um chemisch inerte Substanzen, so daß auch empfindliche Wirkstoffe, wie Peptide, Proteine, appliziert werden können. Hierbei sind

insbesondere Peptide und Proteine von Interesse, die aus den zwanzig natürlichen Aminosäuren aufgebaut werden. Der teilweise Ersatz natürlicher Aminosäuren durch nicht natürlich vorkommende Aminosäuren hat jedoch keinen Einfluß auf die Anwendbarkeit der hier beschriebenen Erfindung (z. B. Cetrorelix). Weiterhin ist auch die Applikation von Oligonucleotiden oder viralen Vektoren möglich.

Bei den Proteinen und Peptiden können aus der Natur stammende Verbindungen eingesetzt werden oder aber solche, die sich insbesondere durch bio- oder / und gentechnische Verfahrensschritte herstellen lassen und allgemein unter der Bezeichnung der rekombinaten Wirkstoffe einzugliedern sind. Hier zeichnen sich insbesondere Therapeutika oder Impfstoffe aus, als da sind humane DNase

(Dornase alpha), Erythropoietin alpha (Epoetin alpha), Erythropoietin beta (Epoetin beta), Faktor VII (Eptacog alpha), Faktor VIII, Follitropin alpha, Follitropin beta, G-CSF, glykosyliert (Lenograstim), G-CSF (Filgrastim), GM-CSF (Molgramostim), Glucagon, Glucocerebrosidase (Alglucerase), IL-2 (Aldesleukin), Interferon alpha-2a, Interferon alpha-2b, Interferon beta-1b, Interferon gamma-1b, Insulin,

(Humaninsulin, Lispro), t-PA (Alteplase), r-PA (Reteplase), humane Wachstumshormon (HGH, Somatropin), Hirudin, Hepatitis B-antigen, Hepatitis A/B Kombinationsimpfstoff, MPIF-1 (Myeloid Progenitor Inhibitor Factor-1), KGF-2 (Keratinocyten-Wachstumsfaktor).

Insgesamt können auch Wirkstoffe aus der folgenden Gruppe und Klassen dieser Wirkstoffe vorteilhaft mit der hier vorgestellten Technologie vor allem in der pulmonalen Applikation zur Anwendung gelangen:

- Calcitonin, Felbamat, AZT, DDI, GCSF, Lamotrigin, Gonadotropin Releasing Faktor (Hormon) (GNRH, GHRH und GHRH-Analoga), Luteinisierendes Hormon Releasing Hormon (LHRH) und LHRH Analoga (sowohl Antagonisten als auch Agonisten, z. B. Leuprolid Acetat, Leuprolid, Lupron or Lupron Depot, Buserelin, Ramorelix,
- 5 Cetorelix), TRH (Thyreotropin Releasing Hormon), Adenosine Deaminase, Argatroban,  $\alpha$ 1-Antitrypsin, Albuterol, Amilorid, Terbutalin, Isoproterenol, Metaproteranol, Pirbuterol, Fluticason Propionat, Budesonid, Beclomethasone Dipropionate, Cromoglycinsäure, Dinatriumcromoglycinat, Nedocromil, Sultanol, Beclomethason, Bambuterol, Mometason, Triacetamid, Isoproterenol, Cromolyn,
- 10 Salmeterol, Salmeterol Xinotat, Formoterol, Triamcinolon Acetonid, Flunisolid, Fluticason, Salbutamol, Budesonid, Fenoterol, Ipratropiumbromid, Tachykinin, Tradykinin, Furosemid, Dinatriumcromoglycat, Nafarelin, Cromolyn Natrium, Albuterolsulfat, Metaproterenolsulfat, Somatostatin, Oxytocin, Desmopressin, ACTH Analoga, secretin glucagon, Kodein, Morphin, Diltiazem, Cromoglycat, Ketotifen,
- 15 Cephalosporin, Pentamidin, Fluticason, Tipredan, Noscapine, Isoetharin, Amilorid, Ipratropium, Oxitropium, Cortison, Prednisolon, Aminophyllin, Theophyllin, Methapyrilen.
- Analgetika, Anginal Präparationen, Antiallergika, Antihistamine, Anti-inflammatorien, Bronchodilatoren, Bronchospasmolytika, Diuretika, Anticholinergetika, Anti-
- 20 Adhäsions Moleküle, Zytokin Modulatoren, biologisch aktive Endonucleasen, rekombinante Human-DNasen, Neurotransmitter, Leukotrin Inhibitoren, vasoaktive Intestinal Peptide, Endothelin Antagonisten, Analeptika, Analgetika, Lokalanästhetika, Narkosemittel, Antiepileptika, Antikonvulsiva, Antiparkinsonmittel, Antiemetika, das Hormonsystem regulierende oder stimulierende Verbindungen, das
- 25 Herz-Kreislauf-System regulierende oder stimulierende Verbindungen, den Respirationstrakt System regulierende oder stimulierende Verbindungen, Vitamine, Spurenelemente, Antioxidantien, Zytostatika, Antimetabolite, Antiinfektiva, Immunmodulatoren, Immunsuppressiva, Antibiotika, Proteine, Peptide, Hormone, Wachstumshormone, Wachstumsfaktoren, Xanthine, Vakzine, Steroide,  $\beta_2$ -
- 30 Mimetika.
- Es können sowohl entweder die freien Säuren oder Basen, aber auch pharmazeutisch aktive und akzeptable Salze dieser Verbindungen und



Substanzklassen, sowie deren Hydrolysate oder Bruchstücke oder Metabolite davon verwendet werden.

Ebenso können für die vorliegende Formulierung übliche Hilfs- und Zusatzstoffe verwendet werden.

- 5 Die nachfolgenden Beispiele dienen zur näheren Erläuterungen der Erfindung, ohne dieselbe auf in den Beispielen beschriebenen Produkte und Ausführungsformen einzuschränken.

#### Beispiele

10

Die folgende Beispiele beziehen sich insbesondere auf die Herstellung der Mikropartikel, wie in der Patentanmeldung (DPA, AZ: 197 37 481.6) beschrieben, auf diese wird ausdrücklich bezug genommen. Des weiteren wird eine besonders vorteilhafte Methode zur Herstellung von Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) in WO 95/31553

15

beschrieben.

Zudem werden Beispiele zur Verdeutlichung der pulmonalen Applikation insbesondere mit Hilfe der Trockenformulierung im Rahmen der Pulverinhalation angeführt.

#### 20 Beispiel 1

In-vitro-Produktion von Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) in einem biokatalytischen Prozeß mit Hilfe des Enzyms Amylosucrase

- 25 In einem sterilisierten (Dampfsterilisation) 15 l Gefäß werden 10 l einer 20 %igen Saccharose Lösung gegeben. Der mittels einer Fermentation erhaltene Amylosucrase enthaltende Enzymextrakt wird in einer Portion zu der Saccharoselösung gegeben. Die Enzymaktivität beträgt 16 units (1 unit entspricht der Umsetzung von 1  $\mu$ mol Saccharose pro Minute pro mg Enzym). Die Apparatur wird mit einem ebenfalls sterilisierten KPG-Rührer versehen. Das Gefäß wird
- 30 verschlossen und bei 40 °C aufbewahrt und gerührt. Nach einiger Zeit bildet sich ein weißer Niederschlag. Die Reaktion wird nach einer Zeitdauer von 180 Stunden beendet. Der Niederschlag wird abfiltriert und zur Abtrennung niedermolekularer

Zucker mehrfach gewaschen. Der im Filter verbleibende Rückstand wird bei Temperaturen zwischen 30 und 40 °C im Trockenschrank unter Anlegung eines Vakuums mit Hilfe einer Membranpumpe (Firma Vacuubrand GmbH & Co, CVC 2) getrocknet. Die Masse beträgt 685 g (Ausbeute 69 %).

5

## Beispiel 2

Charakterisierung des mit Amylosucrase synthetisierten Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) aus Beispiel 1 mittels Gelpermeationschromatographie

10

Es werden 2 mg des Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) aus Beispiel 1 bei Raumtemperatur in Dimethylsulfoxid (DMSO, p. a. von Riedel-de-Haen) gelöst und filtriert (2 mm Filter). Ein Teil der Lösung wird in eine Gelpermeationschromatographie Säule injiziert. Als Elutionsmittel wird DMSO verwendet. Die Signalintensität wird mittels eines RI-

15

Detektors gemessen und gegen Pullulanstandards (Firma Polymer Standard Systems) ausgewertet. Die Flußrate beträgt 1.0 ml pro Minute.

Ein Meßergebnis ist im folgenden angegeben: Zahlenmittel des Molekulargewichts ( $M_n$ ) von 3.200 g/mol und ein Gewichtsmittel des Molekulargewichts ( $M_w$ ) von 9.300 g/mol. Dies entspricht einer Dispersität von 2,8

20

## Beispiel 3

Herstellung von Mikropartikeln aus Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan)

25 400 g Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) werden in 2 l Dimethylsulfoxid (DMSO, p. a. von Riedel-de-Haen) bei 40 °C innerhalb von gelöst. Dann wird eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird in 20 l bidestilliertem Wasser unter Rühren durch einen Tropftrichter über einen Zeitraum von 2 h hinzugegeben. Der Ansatz wird für 40 h bei 6°C gelagert. Es bildet sich eine feine Suspension aus. Der  
30 Partikel werden abgetrennt, indem zunächst der Überstand abdekantiert wird. Der Bodensatz wird aufgeschlämmt und in kleinen Portionen zentrifugiert (Ultrazentrifuge RC5C: je 5 Minuten bei 5000 Umdrehungen pro Minute). Der feste

Rückstand wird insgesamt drei Mal mit bidestilliertem Wasser aufgeschlämmt und erneut zentrifugiert. Die Feststoffe werden gesammelt und die Suspension von ca. 1000 ml gefriergetrocknet (Christ Delta 1-24 KD). Es werden 283 g weißer Feststoff isoliert (Beispiel 3a: Ausbeute 71 %). Die gesammelten Überstände werden bei  
5 einer Temperatur von 18 °C über Nacht verwahrt. Die Aufarbeitung erfolgt wie beschrieben. Es werden weitere 55 g des weißen Feststoffs isoliert (Beispiel 3b: Ausbeute 14 %). Die Gesamtausbeute beträgt 85 %.

#### Beispiel 4

10

#### Entschwefelung der Mikropartikel aus Beispiel 3

Zur Abtrennung in den Partikeln verbliebenen Dimethylsulfoxids wird wie folgt vorgegangen. 100 g der Amylosepartikel aus Beispiel 9 werden in 1000 ml  
15 entionisiertem Wasser gegeben. Der Ansatz wird für 24 h unter leichtem Schwenken sich selbst überlassen. Die Abtrennung der Partikel erfolgt wie in Beispiel 9 beschrieben (Ultrazentrifuge RC5C: je 15 Minuten, 3000 U / min. Nach der Gefriertrocknung ergibt sich eine Auswaage von 98,3 g (98 % Ausbeute). Die Schwefelbestimmung durch Elementaranalyse ergibt folgende Werte  
20 (Prüfmethode Verbrennung und IR-Detektion):

Schwefelgehalt der Partikel aus Beispiel 2: 6 % +/- 0,1 %

Schwefelgehalt der Partikel aus Beispiel 3: < 0,01 %

#### 25 Beispiel 5

#### Untersuchungen der Mikropartikel aus dem Beispiel 3 mittels Elektronenmikroskopie

Zur Charakterisierung der Partikel werden Rasterelektronenmikroskopaufnahmen  
30 (REM) (Camscan S-4 ) durchgeführt. Die Bilder (Fig. 1 und 2) zeigen Aufnahmen der Partikel, die verdeutlichen, daß es sich um sphärische, sehr einheitliche Partikel hinsichtlich der Form, Größe und Oberflächenrauigkeit handelt.

Die Bilder (Fig. 3 und 4) zeigen Aufnahmen der bebildeten Cluster und / oder Agglomerate.

### Beispiel 6

5

Untersuchungen der Größenverteilungen der Partikel aus Beispiel 3

Zur Charakterisierung der Größenverteilungen der Partikel aus den Beispielen 1 und 9 wurden Untersuchungen mit einem Mastersizer durchgeführt (Fa. Malvern Instruments). Die Untersuchung erfolgte im Fraunhofer Modus (Auswertung: multimodal, Anzahl) mit einer Dichte von 1,080 g/cm<sup>3</sup> und Volumenkonzentration im Bereich von 0,012 % bis 0,014 %.

Tabelle 1:

15

Charakterisierung der Partikeldurchmesser der Mikropartikel aus Beispiel 3.

Beispiel	Durchmesser			Partikelverteilung		
No.	Dn <sup>*1</sup> (mm)	dw <sup>*2</sup> (mm)	dw/dn <sup>*3</sup>	d (10 %) <sup>*4</sup> (mm)	d (50 %) <sup>*5</sup> (mm)	d (90 %) <sup>*6</sup> (mm)
3a	1,664	4,184	2,541	0,873	1,504	2,624
3b	0,945	2,345	2,481	0,587	0,871	1,399

- 20 <sup>\*1</sup> dn: Zahlenmittelwert des Durchmessers
- <sup>\*2</sup> dw: Gewichtsmittelwert des Durchmessers
- <sup>\*3</sup> dw / dn: Dispersität der Partikeldurchmesser
- <sup>\*4</sup> d(10 %): 10 % aller Partikel haben einen kleineren Durchmesser als der angegebene Wert
- 25 <sup>\*5</sup> d(50 %): 50 % aller Partikel haben einen kleineren Durchmesser als der angegebene Wert

\*<sup>6</sup> d(90 %): 90 % aller Partikel haben einen kleineren Durchmesser als der angegebene Wert

### Beispiel 7

5

Bestimmung der Flugweite von Mikropartikeln aus Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan)

Andersen Impactor (Andersen Samplers Inc., 4215 Wendell Drive, Atlanta, GA, USA und vgl. Pharmacopoeia Europaeum, Stuttgart, Deutscher Apothekerverlag 1997,

- 10 kap. 2.9.18; dort: Gerät D) besteht aus einer Kaskade von voneinander abgetrennten Platten, die sukzessiv mit kleineren Löchern (Poren) ausgestattet sind. Abhängig von der aerodynamischen Partikelgröße findet auf den einzelnen Platten eine Ablagerung statt.

- 15 Tabelle 2: Charakteristik des Andersen Impactors

Filterstufe	Lochdurchmesser [inch]	Lochdurchmesser [ $\mu$ m]* <sup>1</sup>	Zahl der Löcher
0	0,1004	2550	96
1	0,0743	1887	96
2	0,0360	914	400
3	0,0280	711	400
4	0,0210	533	400
5	0,0135	342	400
6	0,0100	254	400
7	0,0100	254	201

\*<sup>1</sup>Die Angaben in "mm" wurden durch Umrechnung der Herstellerangaben in "inch" erhalten.

20

Die Andersen-Impactor Experimente verlaufen wie folgt: 100 mg der Substanz (hier: drei verschiedene Proben von Mikropartikeln und Agglomeraten (Cluster) aus Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan); hergestellt nach Bsp. 3 und 4), werden in den Ansatzstutzen des Impactors gegeben und mit der zur Ausrüstung gehörenden Pumpe in die

5 Filterkaskade hineingesaugt (Pumpenleistung: 35 l/min.). Nach einer Minute wird das Gerät gestoppt und die Masse der einzelnen Filter (oder Prallplatten) bestimmt. Die Massen an Mikropartikeln sind in der folgenden Abbildung aufgetragen. Dabei wird vor allem das gute Flugverhalten bei minimaler Pumpenleistung deutlich, welches sich in der hohen Masse auf höheren Prallplatten (Filtern) widerspiegelt.

10 Der am Startpunkt verbleibende Rest kann minimiert werden, indem die Partikel durch mechanische Vibration am Ansatzstutzen des Impactors in der Schwebelage gehalten werden (vgl. Probe 2).

Das Verhalten verschiedener Proben von Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) im Andersen

15 Impactor ist in Fig. 5 gezeigt.

#### Beispiel 8

Bestimmung der Flugweite von Pudern aus weiteren Polysacchariden, herkömmlichen Inhalern und Mikropartikeln aus synthetischen Polymeren

20 (Vergleichsbeispiele)

Die Vergleichsbeispiele mit anderen, teils wasserlöslichen Polysacchariden, Material aus herkömmlichen Inhalern und Mikropartikeln aus synthetischen, aber

25 bioabbaubaren Polymeren (Vergleichsbeispiele) wurden analog zu Beispiel 8 durchgeführt. Bei den Polysacchariden handelt es sich um eine Kartoffelstärke des Typs Toffena (Fa. Südstärke) und eine Reisstärke des Typs Remygel (Fa. REMY) mit Partikelgrößen bis zu 100  $\mu$ m und um 4  $\mu$ m. Bei den Inhalern handelt es sich um den Aerolizer (Inhaler 1, Fa. Ciba Geigy) und den Atemur Diskus (Inhaler 2, Fa.

30 cascan). Die Mikropartikel aus Polylactid-co-glycolid (PLGA) wurden mittels

Sprühtrocknung (Material PLGA 65:35-d, I der Fa. Medisorb) hergestellt und haben ca. Durchmesser zwischen 2 und 15 mm.

Das Verhalten anderer, teils wasserlöslicher Polysaccharide im Andersen Impactor (Vergleichsbeispiele) ist in Fig. 6 gezeigt.

5

Das Verhalten von Material herkömmlicher Inhaler und Mikropartikeln aus synthetischen, bioabbaubaren Polymeren im Andersen Impactor (Vergleichsbeispiele) ist in Fig. 7 gezeigt.

## 10 Beispiel 9

Bestimmung der Flugweite von Mikropartikeln verschiedener Geometrien aus Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) und Agglomeraten daraus

- 15 Es wird das Flug- oder Abscheideverhalten von Mikropartikeln verschiedener Größe und Oberflächenrauigkeit in einem gekrümmten Rohr untersucht. Die Versuche bilden die Grundlage für eine Abschätzung einer optimalen Morphologie von Partikeln und Agglomeraten für die Applikation in einem Dry Powder Inhaler. Folgende Annahmen liegen dem Modell zugrunde: luftdurchströmter Kanal  $d = 20$
- 20 mm; Luftdichte  $\rho_f = 1,2 \text{ kg/m}^3$ ; Luftviskosität  $\eta = 1,81 \times 10^{-5} \text{ Pa s}$ ; Strömungsgeschwindigkeit  $v_f = 5 \text{ m/s}$ ; Krümmungsradius  $R = 20 \text{ (200) mm}$ ; Krümmungswinkel  $\alpha = 45^\circ$ ; Partikeldurchmesser  $x = 1 - 5 \text{ mm}$ ; Feststoffdichte  $\rho_s = 1550 \text{ kg/m}^3$ ; Formfaktor  $Y = 1$  und abweichend.
- 25 Zunächst wird das Verhalten kugelig und nichtkugelig Partikeln zueinander verglichen. Für nichtkugelige Partikeln wird eine Struktur zur Beschreibung der Geometrie vorgegeben. Gesucht sind die Sinkgeschwindigkeit im Schwerfeld in Luft sowie die radiale Auslenkung eines solchen Partikels bei Durchströmung eines Rohrbogens. Anhand der berechneten Auslenkung kann abgeschätzt werden, wie
- 30 haften bleiben, also abgeschieden werden.

Die Abweichung der Partikelform von der Kugel läßt sich mit Hilfe des Formfaktors  $\Psi$  beschreiben. Er ist definiert als das Verhältnis der Oberfläche einer Kugel mit gleichem Volumen zur tatsächlichen Oberfläche des Partikels. Für Kugeln ist  $\Psi = 1$ , für nichtkugelige Partikeln gilt  $\Psi < 1$ . Je kleiner der Formfaktor wird, um so eher folgt ein Teilchen der Luftströmung und um so weniger wird es durch Wandhaftung in Rohrkrümmungen abgeschieden. Der aerodynamische Durchmesser verhält sich reziprok zum Formfaktor. Ein Wert von  $\Psi = 0,8$  ist zum Beispiel mit einer Absenkung der Feststoffdichte von  $1550 \text{ kg/m}^3$  auf  $1400 \text{ kg/m}^3$  vergleichbar.

In einer ersten Betrachtung wurde eine glatte Kugel mit einer Kugel mit rauher

- 10 Oberfläche verglichen. Die Rauheit wurde durch kleinere Kugelabschnitte (Kugelkappen), die auf eine Basiskugel aufgesetzt wurden, angenähert. Die Abschnitte waren einerseits nach außen (Himbeerstruktur) andererseits nach innen (Kraterlandschaft) gerichtet. Für nach außen gerichtete Abschnitte ergab sich der Formfaktor zu  $\Psi = 0,958$ , für nach innen gerichtete zu  $\Psi = 0,946$ . Weiterhin wurden
- 15 Agglomerate aus Partikeln betrachtet. Die betrachteten Agglomerate (Körper) bilden idealerweise folgende Anordnungen in der Anordnung einer dichtesten Kugelpackung (für Tetraeder vgl. auch Abbildung 2). Die Körper werden aus Agglomeraten einzelner Kugeln modelliert und besitzen folgende Struktur: a) ein aus Kugeln aufgebauter Tetraeder mit 4 Schichten. Die Kanten werden aus jeweils 4
- 20 Kugeln gebildet. Insgesamt besteht der Tetraeder aus 20 Einzelkugeln; b) Körper aus drei Kugelschichten mit 3, 7 und nochmals 3 Einzelkugeln (kleiner Doppelkegel); c) Körper aus 5 Schichten mit einer Kugelanzahl von 1, 3, 7, 3 und 1 je Schicht (großer Doppelkegel).

Die Tabelle faßt die Ergebnisse der Berechnungen zusammen. Als Parameter wird

25 für die Vergleichbarkeit nur die Abweichung von der Kugelform bei einem vorgegebenen volumenäquivalenten Partikeldurchmesser von  $5 \mu\text{m}$  betrachtet. Es ist zu beachten, daß der Durchmesser der Einzelkugeln für die o. a. Geometrien entsprechend geringer ist. Die Sinkgeschwindigkeit nimmt mit zunehmender Abweichung von der Kugelform ab. Demzufolge verringert sich auch der

30 Abscheidegrad bei der Durchströmung eines Rohrbogens. Im Vergleich zur Kugel mit dem Durchmesser von  $5 \mu\text{m}$  reduziert sich der Abscheidegrad für die aus Agglomeraten aufgebauten Partikelformen auf 66 %. Die Ergebnisse dieser



Modellversuche belegen die Vorteilhaftigkeit der vorliegenden Erfindung hinsichtlich der Oberflächenrauigkeit, sowie der Agglomerate, die im Sinne einer dichtesten Kugelpackung organisiert sind. Insbesondere zeigt sich, daß mit fallendem Formfaktor  $\Psi$ , d. h. gegen Null, der aerodynamische Durchmesser sich verbessert.

- 5 Je besser der aerodynamische Durchmesser desto tiefer die Lungenpenetration (Atemtiefe).

Tabelle 2: Ergebnisse der Berechnung für die oben beschriebenen Partikelformen

	Formfaktor $\Psi$	Agglomerat- dichte [kg/m <sup>3</sup> ]	Sinkgeschwin- digkeit im Schwerefeld [m/s]	radiale Auslenkung [mm]	Abscheide- grad [%]
Kugel	1	1550	0,001165	0,466	2,33
Kugel (Kappen innen)	0,946	1550	0,001134	0,453	2,26
Kugel (Kappen außen)	0,958	1550	0,001141	0,456	2,28
Agglomerat Tetraeder	0,49	1430	0,000753	0,301	1,50
Agglomerat Doppelkegel 3 Ebenen	0,56	1390	0,000782	0,313	1,56
Agglomerat Doppelkegel 5 Ebenen	0,52	1405	0,000762	0,305	1,52

10

#### Beispiel 10

Beladung der Partikel mit Wirkstoff durch ein Suspensionsverfahren

## 23

Die Mikropartikel, bzw. Agglomerate, aus Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) (Herstellung in Beispiel 3 und 4) werden durch einen Suspensionsprozeß mit Wirkstoff beladen. 250 mg Buserelin\* werden in 10 ml destilliertem Wasser gelöst. Es werden 100 mg Partikel hinzugegeben. Die Suspension wird 3 h gerührt. Die Suspension wird

5 zentrifugiert. Das Zentrifugat wird mit Wasser gewaschen. Der partikuläre Feststoff wird per Zentrifuge abgetrennt (3000 U/min) und das Zentrifugat gefriergetrocknet. Durch Auflösung einer exakten Menge der Partikel in einem Wasser-Dimethylsulfoxid und der spektroskopischen Vermessung im UV-Vis-Spektrometer kann über eine Eichkurve die Beladung mit Buserelin zu 3,28 % bezogen auf die

10 Gesamtmasse der Partikel berechnet werden. Durch die Modifizierung des Lösungsmittels für den Wirkstoff, z. B. Alkohole, kann die Löslichkeit und damit die Beladung der Partikel mit Wirkstoff beeinflußt werden.

(\* 5-Oxo-L-prolyl-L-histidyl-L-tryptophyl-L-seryl-L-tyrosyl-O-tert-butyl-D-seryl-L-

15 leucyl-L-arginyl-N-ethyl-L-prolinamid)

## Beispiel 11

## Beladung der Partikel mit Wirkstoff mittels Sprühtrocknung

20

Die Mikropartikel werden in destilliertem Wasser, bzw. einer Mischung aus Wasser und einer leicht flüchtigen Komponente wie Aceton oder Ethanol, suspendiert. Hierzu werden 10 g des Feststoffs in 1 000 ml des Lösungsmittels suspendiert. In dem Lösungsmittel wurden zuvor 0,5 g Theophyllin aufgelöst. Der Sprühtrockner

25 (Mini Sprühtrockner 191 der Fa. Büchi) wird wie folgt betrieben:  
Zerstäubungsluftstrom 700 Liter pro Stunde, Eingangstemperatur 200 °C, eingeschaltete Düsenkühlung, Düsendurchmesser 0,5 mm, Aspirator 70 %, Pumpe 10 %. Die spektroskopische Überprüfung der Beladung (Beschreibung siehe Beispiel oben) ergibt einen Beladungsgrad von 4,8 %. Dieser Wert stimmt mit dem

30 theoretisch erreichbaren Wert von 5,0 % im Rahmen der Fehlergrenzen überein.

## Beispiel 12

## Bestimmung der Löslichkeit von Polysacchariden

- 5 Es werden 100 mg Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) in 5 ml bidestilliertem Wasser gegeben. Das Reaktionsgefäß wird unter Rühren (Magnetrührer) langsam aufgeheizt. Es wird in einem Stufenprogramm mit Abständen von zwanzig Grad erhitzt und mit dem Auge beobachtet. Bei Temperaturen von 40 °C, 60 °C, 80 °C und 100 °C sind keine Veränderungen zu beobachten. Gemäß dieser Beobachtungen ist die Verbindung
- 10 die Eigenschaft "wasserunlöslich" zuzuordnen.

## Beispiel 13

## Bestimmung der Löslichkeit von Polysacchariden und Klassifizierung nach

- 15 Deutschem Arzneibuch (DAB)

- 564 mg Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) werden in ca. 0,5 L bidestilliertem Wasser bei 1,3 bar und 130 °C für 1,5 Stunden in einem Autoklaven erhitzt (Apparat Certoclav). Von dem Reaktionsgefäß ist zuvor das Gewicht gemessen worden. Danach wird die
- 20 Apparatur entspannt und bei Raumtemperatur abgekühlt. Der Inhalt wird gewogen. Er entspricht 501,74 g. Nach weiteren 24 Stunden wird zentrifugiert und dekantiert. Der feste Rückstand wird getrocknet und ausgewogen: 468 mg. Daraus errechnet sich ein gelöster Anteil von 96 mg. Bezogen auf das eingesetzte Lösungsmittel errechnet sich daraus, daß für 1 mg Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) 5226 mg Wasser
- 25 notwendig sind. Gemäß der Klassifizierung nach Deutschem Arzneibuch ergibt sich daraus die Einteilung, daß diese Substanz "sehr schwer löslich" ist, da zwischen 1.000 und 10.000 Teilen Lösungsmittel notwendig sind, um 1 Teil der Substanz in Lösung zu bringen. Dies ist von den 7 Klassen zur Einteilung der Löslichkeit (von "sehr leicht löslich" (Klasse 1) bis "praktisch unlöslich"(Klasse 7) die Klasse
- 30 Nummer 6.

## Beispiel 14

Bestimmung der Löslichkeit von Polysacchariden und Klassifizierung nach  
Deutschem Arzneibuch (DAB)

5

Der Versuch wird wie in Beispiel 13 durchgeführt. Der einzige Unterschied bildet ein  
Kühlprozeß, der nach der Autoklavbehandlung und dem Abkühlen auf  
Raumtemperatur nachgeschaltet wird. Das Substanzgemisch wird für 3 Stunden bei  
5 °C aufbewahrt.

10

Es werden 526 mg Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukan) auf ca. 480 mL bidestilliertem Wasser  
eingewogen. Nach der thermischen Behandlung ergibt sich eine Auswaage von  
468,09 g. Das getrocknete Sediment beträgt 488 mg. Demnach sind 38 mg des  
Poly(1,4- $\alpha$ -D-glukans) in Lösung gegangen. Dies entspricht einem Verhältnis von 1  
15 mg Substanz zu 12.318 Teilen Lösungsmittel. Demnach ist die Substanz nach  
dieser Behandlungsmethode in Klasse Nummer 7 nach DAB einzustufen und  
danach als 'praktisch unlöslich zu klassifizieren, weil mehr als 10.000 Teile  
Lösungsmittel für ein Teil Substanz benötigt werden.

## 20 Beispiel 15

Herstellung von Mikropartikeln aus einer autoklavierten Poly(1-4-alpha-D-glukan)-  
Suspension

25 3,5g Poly(1-4-alpha-D-glukan)-Pulver werden dreimal mit 60°C heißem Wasser  
gewaschen. Anschließend wird in 200 ml entionisiertem Wasser suspendiert. Die  
Suspension wird in einem Laborautoklaven (Pressure Vessels; Typ 452 HCT 316;  
Fa. Parr Instruments Deutschland GmbH) angesetzt. Die Kammer wird mit Stickstoff  
gespült, so daß ein Druck von 1,5 bar erreicht wird.

30 Unter Rühren wird der Autoklav auf 130°C erwärmt. Die Autoklavierzeit bei dieser  
Temperatur beträgt 30 min. Es wird ein Druck von ca. 5 bar erzeugt.

Nach dem Abkühlen des Autoklavs wird die Suspension entnommen und sofort im

Sprühtrockner versprüht. Dabei wird die Suspension mit Hilfe eines Magnetrührers kontinuierlich gerührt.

Der Sprühtrockner (Mini Sprühtrockner 191, Fa. Büchi, Schweiz) wird wie folgt betrieben: Zerstäubungsstickstoffstrom 700 Liter pro Stunde, Eingangstemperatur  
5 220°C, eingeschaltete Düsenkühlung, Düsendurchmesser 0,5mm, Aspirator 70%, Pumpe 70%.

Das Sprühtrocknungsgut wird dem Auffanggefäß des Zyklons entnommen und trocken gelagert. Die Größe der Mikropartikel liegt zu über 90 % in einem Bereich kleiner 10 µm (Auswertung von Elektronenmikroskop-Aufnahmen).

10

#### Beispiel 16

#### Herstellung von Mikropartikeln aus Poly(1,4-alpha-D-glukan)

15 Es wird die Möglichkeit untersucht, direkt aus der Biotransformation anfallendes Polyglukan für die Herstellung lungengängiger Partikel herzustellen. Hierzu wird eine 20 %ige Suspension hergestellt, indem 500 g Poly(1,4-alpha-D-glukan) aus  
Beispiel 1 in 2,5 l Wasser suspendiert werden. Die Suspension wird  
sprühgetrocknet. Hierzu wird der Sprühtrockner ( Mini Spray Dryer B-191 der Firma  
20 Büchi ) wie folgt betrieben: Zerstäubungsluftstrom 650 Liter pro Stunde, Eingangstemperatur 140 °C, keine Düsenkühlung, Düsendurchmesser 0,7 mm, Aspirator 70 %, Pumpe 30 %. Es werden 197,5 g weißer Feststoff aus dem  
Produktauffang - Gefäß entnommen. Die Ausbeute beträgt 40 %. Ein Anteil von  
mehr als 90 % der Partikel liegen mit ihrem Durchmesser im Bereich von 1-10 µm.

25

Die Verwendbarkeit als Trägermaterial für eine Applikation als Dry Powder bei der inhalativen Gabe eines Wirkstoffs wird mittels der in Beispiel 7 beschriebenen Andersen Impactor-Apparatur bestimmt. Die Ergebnisse zeigen in Figur 8 die prinzipielle Lungengängigkeit der durch Sprühtrocknung erhaltenen Partikel (siehe  
30 auch Figuren 5 - 7 zu den Beispielen 7 und 8).

**Beispiel 17**

Charakterisierung der Fließfähigkeit von Mikropartikeln und Pulver aus Poly(1,4-alpha-D-glukan) nach List et al., Arzneiformenlehre, WVG, Stuttgart, 1985; Kap.

5 **2.10.1**

100 g Pulver aus Bsp. 3 und 4 sowie Bsp. 1 werden in einen Rieseltrichter (Rieselfähigkeits-Prüfgerät, Fa. Engelsmann, Ludwigshafen) gefüllt und dabei die Ausflußöffnung verschlossen gehalten. Die Ausflußöffnung wird freigegeben und das Pulver während des Auslaufens mit dem Rührbügel durch Betätigung einer Kurbel durchmischt. Nach 2 Minuten Ruhezeit werden der Durchmesser und die Höhe des Pulverkegels vermessen und daraus der Böschungswinkel bestimmt. Bei zu hohem Schüttvolumen werden statt 100 g Pulver nur 50 g eingesetzt.

Tabelle: Es gilt:  $\tan \alpha = h / r$  nach List (supra, S. 53 ff)

15

Trockenbindemittel	Kegelhöhe	Kegelradius	Böschungswinkel
Einheit	h in cm	r in cm	$\alpha$ in °
Mikropartikel aus Bsp. 3, 4	6,4	8,50	37,0
Pulver aus Bsp. 1	3,6	6,25	29,9
Pulver aus Bsp. 1	4,1	6,75	31,3

Besonders geeignet sind Pulver mit einem Böschungswinkel  $\leq 30^\circ$ . Entsprechende referenzmessungen mit bekannt gut fließenden Materialien wie EMDEX®, Avicel®, Toffena® ergeben Böschungswinkel um die  $30^\circ$  (Vgl. Bauer, Fröming, Führer, Pharmazeutische Technologie, Stuttgart, 1989, S. 345).

**Beispiel 18:**

Beladung von Mikropartikeln hergestellt aus einer autoklavierten Poly (1-4-alpha-D-glukan)-Suspension

25

3,5g Poly(1-4-alpha-D-glukan)-Pulver werden dreimal mit  $60^\circ\text{C}$  heißem Wasser gewaschen. Anschließend wird in 200 ml entionisiertem Wasser suspendiert. Die Suspension wird in einem Laborautoklaven (Pressure Vessels; Typ 452 HCT 316;

Fa. Parr Instruments Deutschland GmbH) angesetzt. Die Kammer wird mit Stickstoff gespült, so daß ein Druck von 1,5 bar erreicht wird.

Unter Rühren wird der Autoklav auf 130°C erwärmt. Die Autoklavierzeit bei dieser Temperatur beträgt 30 min. Es wird ein Druck von ca. 5 bar erzeugt.

- 5 Nach dem Abkühlen des Autoklavs wird die Suspension entnommen, 175 mg Theophyllin (entspricht 5% Beladung) darin gelöst und die wirkstoffhaltige Suspension sofort im Sprühtrockner versprüht. Dabei wird die Suspension mit Hilfe eines Magnetrührers kontinuierlich gerührt.

- Der Sprühtrockner (Mini Sprühtrockner 191, Fa. Büchi, Schweiz) wird wie folgt  
10 betrieben: Zerstäubungsstickstoffstrom 700 Liter pro Stunde, Eingangstemperatur 220°C, eingeschaltete Düsenkühlung, Düsendurchmesser 0,5mm, Aspirator 70%, Pumpe 70%.

- Das Sprühtrocknungsgut (Ausbeute mind. 25% bezogen auf die im Autoklaven  
eingesetzte Menge Feststoff) wird dem Auffanggefäß des Zyklons entnommen und  
15 trocken gelagert. Die Größe der Mikropartikel liegt zu über 90 % in einem Bereich kleiner 10 µm (Auswertung von Elektronenmikroskop-Aufnahmen).

- Die Beladung der Mikropartikel mit Theophyllin wird photometrisch überprüft. Dazu  
werden 50 mg der Probe bei 60°C in 100 ml Dimethylsulfoxid gelöst und bei 271 nm  
vermessen (Lambda 20 Photometer, Perkin Elmer). Der Beladungsgrad liegt bei  
20 mind. 95%.

20 mg der wirkstoffbeladenen Mikropartikel werden in die Dosierkammer eines handelsüblichen Dry Powder Inhalers (Aerolizer®, Fa. Ciba-Geigy) gefüllt und die Flugweite wie in Beispiel 7 beschrieben mit dem Andersen-Impaktor vermessen.

Tabelle 3 und 4:

Das Verhalten von wirkstoffbeladenen Mikropartikeln aus Poly(1-4-alpha-D-Glukan) im Andersen Impactor (Alle Werte in mg)

	Zyklon		Zyklon		Filter		Filter	
	Einwage: 20,27	Einwage: 20,31	Einwage: 20,56	Einwage: 20,17	Einwage: 20,26	Einwage: 19,82	Einwage: 5,2	Einwage: 3,1
Lochplatte 0	4,30	4,5	3,3	2,8	6,7	19,82	5,2	3,1
Lochplatte 1	0,34	0,33	1,48	1,35	2,44	19,82	5,2	3,1
	0,30	0,27	0,7	0,6	1,1	19,82	5,2	3,1
1	0,10	0,18	0,23	0,23	1,24	19,82	5,2	3,1
2	0,14	0,12	0,18	0,13	0,97	19,82	5,2	3,1
3	0,20	0,23	0,08	0,08	0,81	19,82	5,2	3,1
4	0,04	0,03	0,09	0,07	0,69	19,82	5,2	3,1
5	0,02	0,02	0,09	0,05	0,17	19,82	5,2	3,1
6	0,01	0,02	0,04	0,02	0,12	19,82	5,2	3,1
7	0,00	0,01	0,02	0,01	0,12	19,82	5,2	3,1
Ausbeute:	5,45	5,71	6,21	5,34	14,36	19,82	5,2	3,1

	Zyklon		Zyklon		Filter		Filter	
	Einwage: 20,27	Einwage: 20,31	Einwage: 20,56	Einwage: 20,17	Einwage: 20,26	Einwage: 19,82	Einwage: 38,15	Einwage: 22,74
Lochplatte 0	78,90	78,81	53,14	52,43	46,66	19,82	38,15	22,74
Lochplatte 1	6,24	5,78	23,83	25,28	16,99	19,82	38,15	22,74
	5,50	4,73	11,27	11,24	7,66	19,82	38,15	22,74
1	1,83	3,15	3,70	4,31	8,64	19,82	38,15	22,74



2	2,57	2,10	2,90	2,43	6,75	6,68
3	3,67	4,03	1,29	1,50	5,64	5,80
4	0,73	0,53	1,45	1,31	4,81	4,77
5	0,37	0,35	1,45	0,94	1,18	1,39
6	0,18	0,35	0,64	0,37	0,84	1,03
7	0,00	0,18	0,32	0,19	0,84	0,73
Ausbeute:	100	100	100	100	100	100

BERCHTIGTES BLATT ( REGEL 91)  
ISA / EP

## Patentansprüche

1. Partikuläre Wirkstoffträger, dadurch gekennzeichnet, daß diese mindestens  
ein lineares wasserunlösliches Polysaccharid enthalten und die mittlere Größe  
5 kleiner als 10 µm ist.
2. Partikuläre Wirkstoffträger nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  
diese Agglomerate und / oder Cluster bilden, die kleiner als 60 µm sind.
- 10 3. Partikuläre Wirkstoffträger nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,  
daß diese in einer Mischung vorliegen.
4. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen  
15 linearen Polysaccharid, welches in einem biotechnischen Verfahren hergestellt  
wurde.
5. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen  
20 linearen Polysaccharid, welches durch einen biokatalytischen Prozeß  
hergestellt wurde.
6. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
bestehend ganz oder teilweise aus mindestens einem wasserunlöslichen  
25 linearen Polysaccharid, welches durch einen fermentativen Prozeß hergestellt  
wurde.
7. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch  
gekennzeichnet, daß das lineare wasserunlösliche Polysaccharid Poly(1,4- $\alpha$ -  
30 D-glukan) ist.

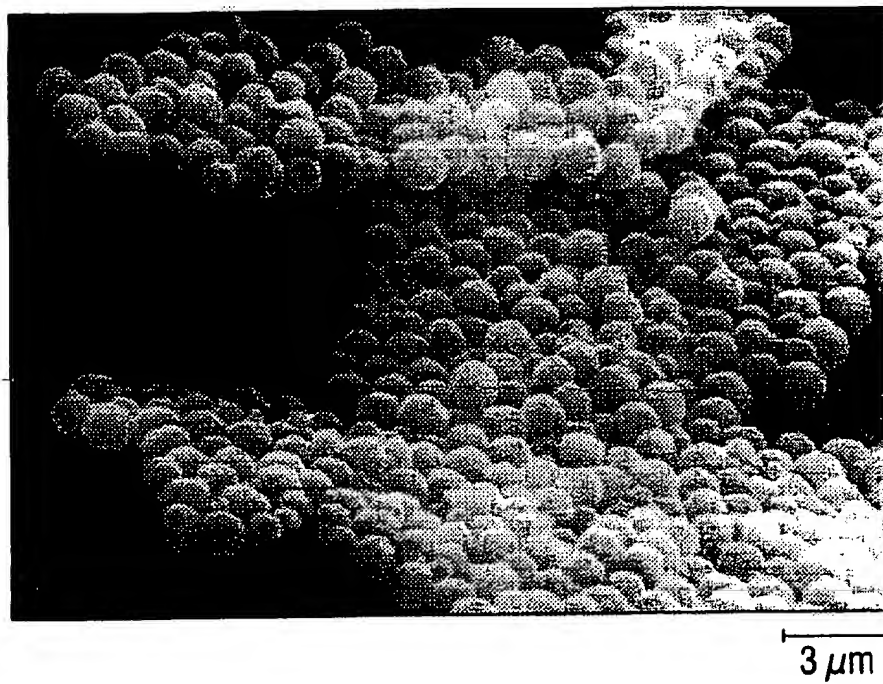
8. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß diese biokompatibel und / oder pharmazeutisch akzeptabel sind.
- 5 9. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur kontrollierten Wirkstoffabgabe.
10. Partikuläre Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich einen oder mehrere Wirkstoffe enthalten.
- 10 11. Verwendung von partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen.
12. Verwendung von partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen, die einen therapeutischen Effekt erzielen.
- 15 13. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 als pulmonale Applikationsform.
- 20 14. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 oder 16 bis 17 zur pulmonalen Applikation mittels einer Trockenformulierung.
15. Verwendung der partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 oder 14 als pulmonale Applikationsform, mittels Inhalation mit Hilfe eines "Dry Powder Inhalers".
- 25 16. Dispergierbare Trockenformulierung und / oder Puder, dadurch gekennzeichnet, daß diese aus dem partikulären Wirkstoffträger nach einem der Ansprüche 1 bis 9 enthält.
- 30

17. Dispergierbare Trockenformulierung und / oder Puder nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß diese einen Wassergehalt von weniger als 25 % aufweist, bevorzugt einen Wassergehalt von weniger als 15 % und besonders bevorzugt ein Wassergehalt von 5 - 10 %.

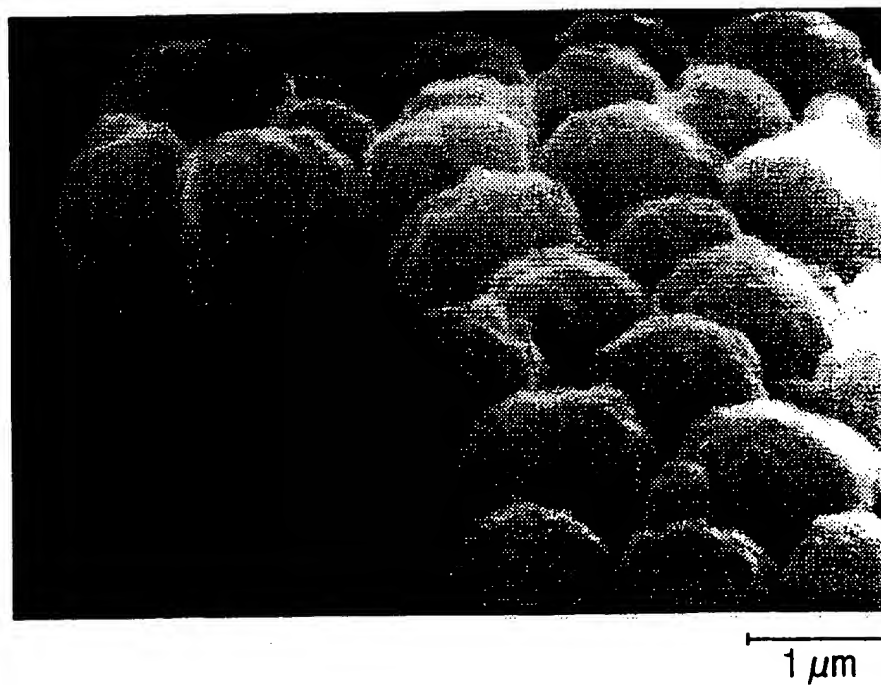
5

18. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend lineare wasserunlösliche Polyssaccharide nach einem der Ansprüche 1 bis 9 neben üblichen Trägerstoffen, Hilfsmitteln und / oder Zusatzstoffen.

***Fig. 1***

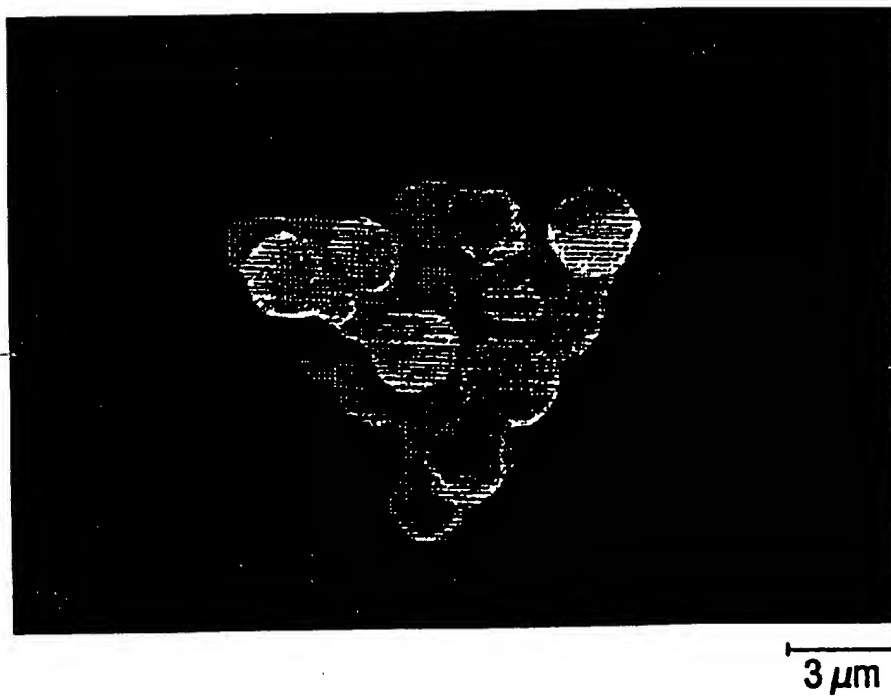


***Fig. 2***

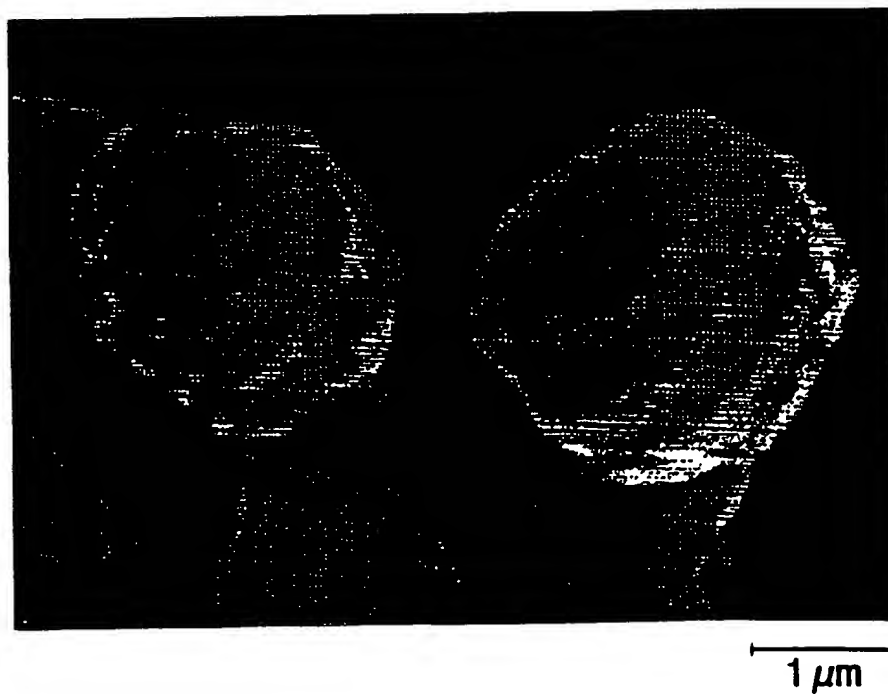


2 / 4

***Fig. 3***

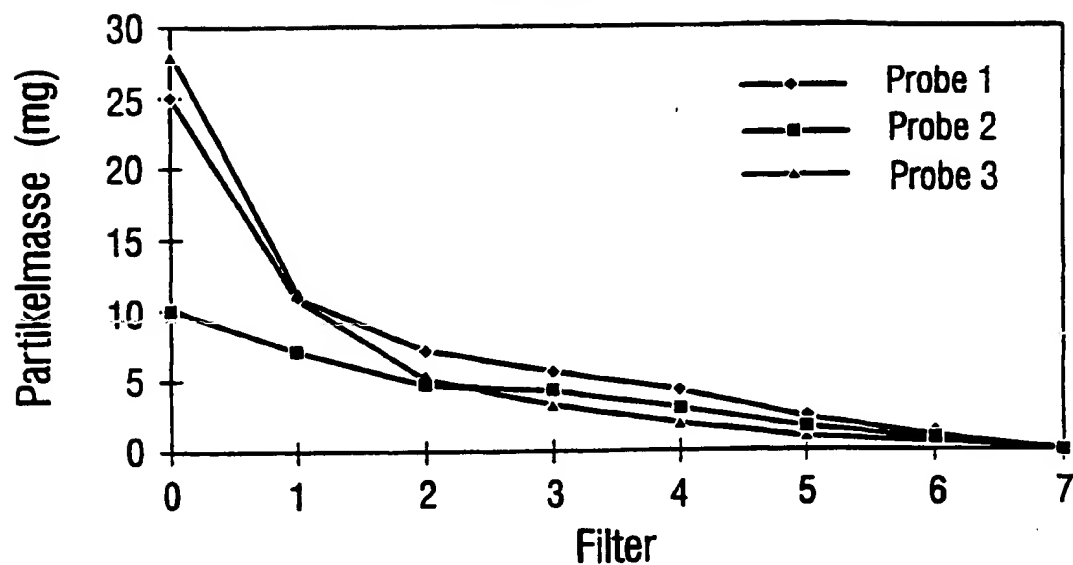
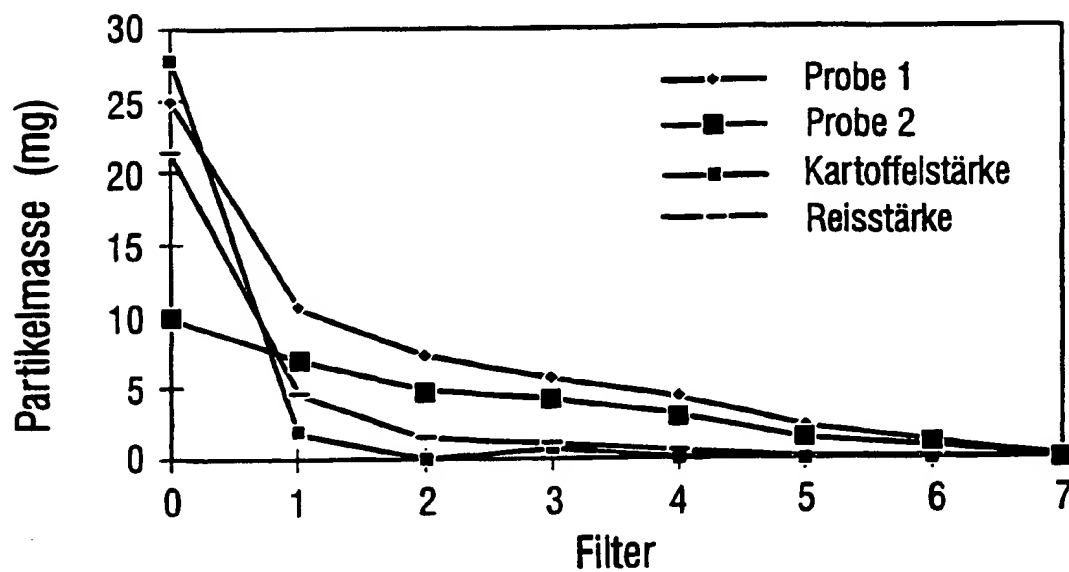


***Fig. 4***

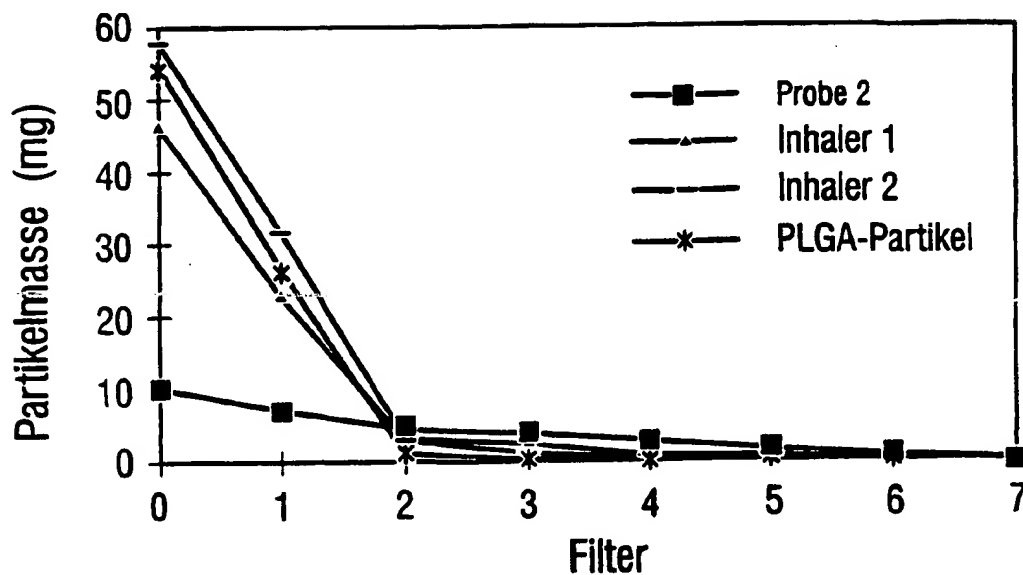
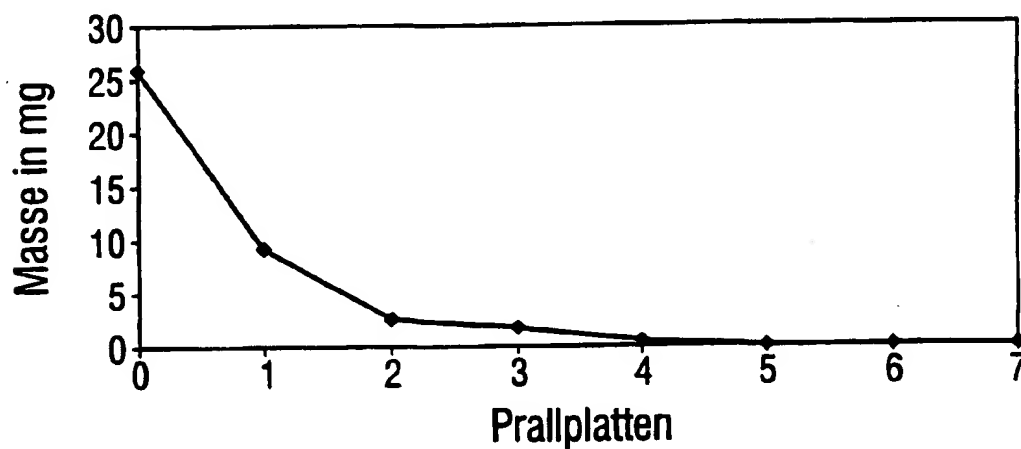


BERCHTIGTES BLATT ( REGEL 91)  
ISA / EP

3 / 4

**Fig. 5****Fig. 6**

4 / 4

**Fig. 7****Fig. 8**



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No  
PCT/EP 99/02385

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61K9/16 A61K9/72

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X, L	WO 99 11695 A (AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG) 11 March 1999 (1999-03-11) the whole document The priority claim of the present application seems questionable. page 9, line 12 - page 10, line 12 & DE 197 37 481 A cited in the application ---	1-12, 16-18
A	GB 937 303 A (BENGER LABORATORIES LIMITED) the whole document ---	13-15
A	WO 97 35562 A (DANBIOSYST UK LIMITED) 2 October 1997 (1997-10-02) cited in the application page 15; example 1 ---	13-15
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 July 1999

Date of mailing of the international search report

09.08.99

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

BENZ, K

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 99/02385

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 96 36314 A (PHARMACEUTICAL DISCOVERY CORPORATION) 21 November 1996 (1996-11-21) cited in the application claims 1,2</p> <p>-----</p>	13-15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

national Application No

PCT/EP 99/02385

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9911695 A	11-03-1999	DE 19737481 A AU 9532798 A	04-03-1999 22-03-1999
GB 937303 A		NONE	
WO 9735562 A	02-10-1997	AU 2038497 A CA 2250053 A EP 0895473 A GB 2325162 A NO 984376 A	17-10-1997 02-10-1997 10-02-1999 18-11-1998 21-09-1998
WO 9636314 A	21-11-1996	AU 5740996 A	29-11-1996

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/02385

<b>A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 6 A61K9/16 A61K9/72		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X, L	WO 99 11695 A (AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG) 11. März 1999 (1999-03-11) das ganze Dokument Der Prioritätsanspruch der vorliegenden Anmeldung erscheint fraglich. Seite 9, Zeile 12 - Seite 10, Zeile 12 & DE 197 37 481 A in der Anmeldung erwähnt ---	1-12, 16-18
A	GB 937 303 A (BENGER LABORATORIES LIMITED) das ganze Dokument ---	13-15
A	WO 97 35562 A (DANBIOSYST UK LIMITED) 2. Oktober 1997 (1997-10-02) in der Anmeldung erwähnt Seite 15; Beispiel 1 --- - / - -	13-15
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 16. Juli 1999		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 09.08.99
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter BENZ, K

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/02385

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>WO 96 36314 A (PHARMACEUTICAL DISCOVERY CORPORATION)</p> <p>21. November 1996 (1996-11-21)</p> <p>in der Anmeldung erwähnt</p> <p>Ansprüche 1,2</p> <p>-----</p>	13-15

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

nationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/02385

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9911695      A	11-03-1999	DE 19737481 A AU 9532798 A	04-03-1999 22-03-1999
-----			
GB 937303      A		KEINE	
-----			
WO 9735562      A	02-10-1997	AU 2038497 A CA 2250053 A EP 0895473 A GB 2325162 A NO 984376 A	17-10-1997 02-10-1997 10-02-1999 18-11-1998 21-09-1998
-----			
WO 9636314      A	21-11-1996	AU 5740996 A	29-11-1996
-----			